

**POTENCIAL ANTIBACTERIANO DO ALIMENTO LARVAL COLETADO  
PELAS ABELHAS *XYLOCOPA GRISESCENS* E *X. FRONTALIS* FRENTE A  
BACTÉRIAS CAUSADORAS DA CÁRIE.**

**Leonardo Santos Teixeira<sup>1</sup>, Thayane Nogueira Araújo<sup>2</sup>, Solange Cristina Augusto<sup>1</sup>, Carlos  
Henrique Gomes Martins<sup>3</sup>,**

<sup>1</sup> Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

<sup>2</sup> Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto,  
São Paulo, Brasil.

<sup>3</sup> Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.  
Programa de Pós-Graduação em Imunologia.

## RESUMO

A cárie é a patologia mais comum que acomete a população, sendo de ocorrência mundial. O uso de antissépticos bucais, como a clorexidina, pode provocar efeitos indesejáveis no paciente, como amarelamento dos dentes e dessensibilização do paladar. Logo, há a necessidade crescente por novas alternativas para o tratamento dessa patologia sem os atuais efeitos colaterais dos antissépticos bucais. Nesse sentido, um produto natural que tem se destacado como antibacteriano é o pólen. Há relatos na literatura que descrevem a atividade antibacteriana deste produto. Assim, o presente estudo visa analisar *in vitro* o possível efeito do alimento larval de *Xylocopa frontalis* e *X. grisescens* frente às cepas de bactérias causadoras da cárie, de acordo com sua composição polínica. As amostras do alimento larval coletado por essas abelhas foram obtidas diretamente das células de cria, em diferentes estações do ano, a partir de ninhos localizados em diferentes áreas do Triângulo Mineiro. A composição, riqueza e abundância dos tipos polínicos foram analisadas após o processo de acetólise. Foi utilizada a técnica de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) para avaliar o potencial antibacteriano frente às cepas *Streptococcus mutans*, *S. mitis*, *S. sanguinis*, *S. oralis*, *S. sobrinus*, *S. salivarius*, *Lactobacillus paracasei*, e *Enterococcus faecalis*. Os resultados mostraram que: (i) houve uma ação bactericida e/ou bacteriostática frente a cinco das oitos cepas testadas; (ii) somente sete, das 14 amostras de alimento larval testadas tiveram ação bactericida; e (iii) as amostras contendo os tipos polínicos *Eucalyptus*, *Bauhinia*, *Eriotheca*, *Ouratea* e *Poincianella*, foram as que apresentaram efeitos antibacterianos. Considerando os resultados obtidos, podemos sugerir que a composição polínica tem afetado o potencial antibacteriano do alimento larval. Assim, faz-se necessário, a identificação das espécies vegetais correspondentes a esses tipos polínicos das amostras que apresentaram efeito positivo, buscando avaliar diretamente sua atividade antibacteriana para as cepas causadoras da cárie.

## 1 INTRODUÇÃO

A cárie dental é um grande problema de saúde pública mundial. Ela está associada a uma série de bactérias bucais, que aderem à superfície do dente e é acometida quando há o acúmulo dessas bactérias. Esse processo resulta no desenvolvimento de biofilme e de seu metabolismo na superfície dental, desmineralizando o esmalte pelo resultado da degradação contínua da dentina, resultando na completa destruição dental quando não feito o tratamento adequado (Santiago *et al.*, 2018).

Os atuais métodos de prevenção e tratamento da cárie, como a clorexidina, podem levar a diferentes efeitos colaterais, estéticos e fisiológicos, como o amarelamento dos dentes e a dessensibilização do paladar e diarreia (Franca *et al.*, 2014). Além disso, o aumento da resistência bacteriana a esse produto e o alto custo de procedimentos corretivos também foram motivos de preocupação (Marinho & Araújo, 2007). Diante disso, faz-se necessário a busca por novos agentes antibacterianos e, pesquisas por produtos naturais, devem ser ampliadas visando minimizar os efeitos colaterais indesejáveis de produtos antissépticos.

O alimento larval é um produto sintetizado pelas abelhas sociais e solitárias, sendo resultado da fermentação do pólen coletado por esses insetos quando há a mistura com suas enzimas digestivas (Kieliszek *et al.*, 2018). Esse recurso é o principal alimento para larvas, sendo composto principalmente pelo pólen e outros compostos como água, néctar e secreções glandulares (Bakour *et al.*, 2019)

No contexto do alimento larval, o pólen é um recurso vegetal sendo a fonte primária da alimentação das abelhas e, suas propriedades bioativas vêm sendo amplamente evidenciadas na literatura, descritas como fungicida, anti-inflamatória e antibacteriana (Costa *et al.*, 2017; Komosinska-Vassev *et al.*, 2015). A propriedade antibacteriana do pólen é reflexo das características de seus constituintes, em especial os

compostos flavonoides, variando sua concentração de acordo com a origem da espécie botânica que foi coletada (Caldas *et al.*, 2019).

As abelhas solitárias ou facultativamente sociais representam cerca de 85% espécies de abelhas descritas (Voulgari-Kokota *et al.*, 2019; Batra, 1984), sendo notável a escassez de informações sobre as propriedades antibacterianas dos recursos coletados por essas espécies. Um bom modelo de estudo são as espécies que nidificam em cavidades preexistentes e podem ser atraídas pela disponibilização de ninho-armadilha (NA), em áreas previamente definidas. A obtenção de ninhos dessas espécies facilita o acesso e a coleta do alimento larval coletado pelas fêmeas nidificantes e a identificação da composição e diversidade dos tipos polínicos presentes nesse alimento (Oliveira-Filho & Freitas 2003, Pereira & Garófalo, 2010). Um exemplo de abelhas que podem ser facilmente atraídas por NA são aquelas do gênero *Xylocopa* (Latreille, 1802), mais especificamente *Xylocopa* (Neoxylocopa) *frontalis* (Olivier, 1789) e *Xylocopa* (Neoxylocopa) *grisescens* Lepeletier, 1841, popularmente conhecidas como abelhas carpinteiras (Junqueira *et al.* 2012, 2013).

*Xylocopa frontalis* e *X. grisescens* possuem hábitos alimentares generalistas, como as abelhas do gênero *Xylocopa* em geral (Junqueira 2017, Bernardino & Gaglianone, 2008; Raju & Rao, 2006). Estudos na região do Triângulo Mineiro mostraram que essas espécies, embora se assemelhem morfológicamente, apresentam similaridade moderada em relação à coleta de recursos alimentares, no qual *X. frontalis* coleta preferencialmente pólenes de plantas com anteras com deiscência poricida, como Fabaceae e Solanaceae, enquanto *X. grisescens* coleta pólen de plantas com deiscência não poricida. Entretanto, ambas podem apresentar variações em sua coleta de acordo com a sazonalidade (Araújo, 2019).

Portanto, tendo em vista o potencial efeito antibacteriano do pólen e a possibilidade de usar as abelhas solitárias que nidificam em NA como modelos de estudo, o presente trabalho teve como objetivo, avaliar *in vitro* a atividade antibacteriana do alimento larval de *X. frontalis* e *X. grisescens*, utilizando um painel de bactérias bucais precursoras da cárie. Também foi analisado o efeito da composição e diversidade polínica do alimento larval de ambas as espécies frente a diferentes linhagens de bactérias causadoras da cárie.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 Local e coleta das amostras

As amostras utilizadas foram coletadas de ninhos estabelecidos por *Xylocopa frontalis* e *X. grisescens* em ninho-armadilhas (NA). Esses NA consistiam em gomos de bambus fechados em uma das extremidades pelo próprio nó e introduzidos em orifícios existentes em tijolos do “tipo baiano” (Pereira & Garófalo, 2010). Esses NA foram mantidos em abrigos construídos na Fazenda Experimental Água Limpa – UFU/FUNDAP (19°05'48" S/48°21'05"W), Estação Ecológica do Panga (19°10'57.7"S 48°23'37.5"W), e Instituto de Biologia (18°53'10.0"S 48°15'36.2"W). Todas as regiões estão localizadas no município de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Os ninhos estabelecidos por *X. frontalis* e *X. grisescens* foram mensalmente inspecionados, em busca de células contendo alimento larval, no período de agosto de 2019 a agosto de 2020, entre 07h e 15h. As amostras foram coletadas diretamente da célula de cria que estava sendo provisionada, por meio da remoção mecânica do alimento larval utilizando-se bastões de vidro, e transferidas para um frasco escuro. Posteriormente, eram levadas ao laboratório e processadas no mesmo dia da coleta, de acordo com protocolos pré-estabelecidos.

Foram coletadas 14 amostras, sendo nove de *X. frontalis* e cinco de *X. griseus* (Tabela 1). Cada amostra foi dividida em duas subamostras. A primeira subamostra foi utilizada para os ensaios de Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima e, a outra, utilizada para análise da composição e diversidade polínica.

## **2.2 Processamento das amostras**

### **2.2.1. Ensaios Antibacterianos**

As linhagens de bactérias selecionadas para esse estudo foram provenientes da American Type Culture Collection (ATCC): *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *S. mitis* (ATCC 49456), *S. sanguinis* (ATCC 10556), *S. oralis* (ATCC 55229), *S. sobrinus* (ATCC 33478), *S. salivarius* (ATCC 25975), *Lactobacillus paracasei* (ATCC 11578) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 4082). As bactérias avaliadas são mantidas no Laboratório de Ensaios Antimicrobianos (LEA), da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), sob congelamento em freezer a -20 °C em uma solução de glicerol a 80%.

Para a preparação do inóculo, as bactérias foram semeadas em placas de Petri com meio ágar Brain Heart Infusion (BHI) suplementado com 5% de sangue desfibrinado de cavalo, cultivados por 24 horas a uma temperatura de 37°C, seguindo as condições de atmosfera para cada espécie. Após o período de incubação, foram utilizadas colônias isoladas com alça de platina e transferidas para tubos com solução salina 0,85%, até que se obtivesse turbidez correspondendo a escala 0,5 de McFarland, correspondendo a  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL (CLSI, 2012).

### **2.2.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)**

Foi utilizado o método de determinação da CIM por microdiluição em microplaca preconizada pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012) com adaptações para a interpretação dos resultados. Os testes foram realizados em triplicata. As amostras foram solubilizadas em água destilada e caldo *Brain Heart Infusion* (BHI - Difco Labs, Detroit, MI, USA). Em uma microplaca estéril de 96 poços (TPP *Techno Plastic Products* AG, Trasadinger, Schaffhausen, Suíça) foi depositado um total de 200  $\mu\text{L}$  da mistura do caldo BHI, a amostra teste e suspensão bacteriana contendo  $1 \times 10^5$  unidades formadoras de colônia por mililitro (UFC/mL), de forma a se obter uma concentração das amostras de 0,00098 a 2  $\mu\text{g/mL}$ .

Foram realizados o controle de crescimento bacteriano e o controle de esterilidade do caldo, das amostras e do controle da técnica com clorexidina (Sigma) em concentrações de 0,00011 a 0,059 mg/mL. A placa foi incubada a 37°C em câmara de aerobiose durante 24 horas. Para revelação do crescimento bacteriano foi utilizado 30  $\mu\text{L}$  de uma solução aquosa de resazurina (Sigma) a 0,02%. As placas foram reincubadas durante 30 minutos, e analisadas de acordo com as variações de cor entre azul (sem crescimento bacteriano) e rosa (com crescimento bacteriano). A menor concentração de amostra cujo poço permaneceu azul foi considerada a CIM

### **2.2.3 Determinação da Concentração Bactericida Mínima**

Para determinar a concentração bactericida mínima (CBM), uma amostra de 10  $\mu\text{L}$  foi retirada dos poços inoculados na CIM antes da adição de resazurina. Essa alíquota foi semeada em placas de Petri contendo ágar BHI suplementado com 5% de sangue de cavalo desfibrinado, as quais foram incubadas a 37° por 24 horas. A CBM foi considerada

como a menor concentração na qual a amostra de alimento larval impediu o crescimento bacteriano visível sobre o ágar. Os experimentos foram realizados em triplicata.

### **2.3 Composição polínica**

As amostras de alimento larval foram preparadas segundo protocolo de Erdtman (1960). A técnica submete os grãos de pólen presentes nessa amostra, à acetólise (hidrólise ácida), removendo todo conteúdo celular para observação da parede externa do pólen, também chamada de exina e eliminando possíveis componentes contaminantes. Ao final desse processo, as lâminas foram preparadas com gelatina glicerinada lutadas em parafina e anexadas à palinoteca do Laboratório de Ecologia e Comportamento Abelhas (LECA – UFU).

Com base em suas características, a morfologia do grão de pólen foi comparada e identificada através da literatura (Roubik & Moreno, 1991), um banco de dados de imagens de grãos de pólen (Bastos *et al.*, 2008) e o laminário referência disponível no Laboratório de Morfologia, Microscopia e Imagem (LAMOVI) do Instituto de Biologia.

As análises quantitativas das amostras polínicas, foram realizadas através da varredura de toda a lâmina de microscópio usando 80x de ampliação. Para isso, a lamínula foi dividida em quatro quadrantes e aproximadamente 400 grãos de pólen foram contados, 100 grãos em cada quadrante e todos os grãos presentes em quadrantes com menos de 100 grãos (Vilhena *et al.*, 2012). Foi utilizada a classificação proposta por Louveaux *et al.* (1978) para classificar os tipos polínicos de acordo com sua abundância relativa. Assim os tipos foram classificados como: (i) como predominantes (PP), quando apresentou abundância foi superior a 45%; (ii) como pólen secundário (PS), os de abundância entre 16% e 45%; (iii) como pólen menos importante (MI) se sua abundância estava entre 3% e 15%; e (iv) como pólen menor, se apresentado a abundância era inferior

a 3%. Os tipos polínicos que ocorreram com abundância inferior a 3% em cada amostra, foram excluídos da análise, por serem considerados contaminantes.

## **2.4 Análises estatísticas**

A Análise Componentes Principais (PCA) foi utilizada para realizar uma análise exploratória quanto aos tipos polínicos presente nas amostras em relação ao efeito bactericida. A análise foi realizada no software R versão 4.0.2, utilizando os pacotes spaa (Zhang 2016) e vegan (Oksanen *et al.*, 2019).

## **3 RESULTADOS**

### **3.1 - Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima (CIM/CBM)**

A atividade antibacteriana do alimento larval foi verificada em apenas sete das 14 amostras testadas, as quais tiveram ação antibacteriana (bactericida e/ou bacteriostática) contra cinco cepas: *S.mitis*, *S. sobrinus*, *S. sanguinis*, *L. paracasei*, e *E. faecalis*. Não houve a identificação da CIM e CBM nas concentrações analisadas, para as bactérias *S. mutans*, *S. oralis*, e *S. salivarius* (Tabela 2).

As atividades bactericidas e/ou bacteriostáticas das amostras, de acordo com as concentrações utilizadas (1 ou 2 mg/mL), frente às diferentes cepas são apresentadas na Tabela 2.

As amostras que mostraram ações bactericidas e/ou bacteriostáticas mais efetivas foram: L12, L13 e L14, eliminando todas as cinco bactérias que foram sensíveis ao tratamento, nas concentrações analisadas, com exceção da amostra L12, que demonstrou apenas ação bacteriostática (1 a 2 mg/mL) para *S. sanguinis*.

A amostra L11 se mostrou eficaz frente quatro cepas bacterianas: *S. mitis*, *S. sobrinus*, *S. sanguinis*, *L. paracasei*, demonstrando propriedades bactericidas e bacteriostáticas para as concentrações analisadas

As amostras L6, L7 e L9 demonstraram propriedades bactericidas e/ou bacteriostáticas nas concentrações analisadas apenas para três bactérias selecionadas: *S. mitis*, *S. sanguinis* e *L. paracasei* (1 a 2 mg/mL).

### 3.2 - Composição polínica

As abelhas coletaram 12 tipos polínicos (*Bauhinia*, *Eriotheca*, *Eucalyptus*, *Eugenia*, *Poincianella*, *Machaerium*, Melastomataceae, *Mimosa*, Myrtaceae, *Ouratea*, *Senna*, *Solanum*), pertencente a seis famílias botânicas (Fabaceae, Malvaceae, Melastomataceae, Myrtaceae, Ochnaceae e Solanaceae), e dois tipos não identificados (Figura 1).

Todas as amostras coletadas obtiveram em sua composição um tipo de pólen predominante (PP). Em nossas análises, *Machaerium* foi coletado 10 vezes, sendo PP em 8 delas. Observa-se que, para as outras lâminas, foram demonstrados os tipos PP de *Eugenia*, *Eucalyptus*, *Ouratea* e *Eriotheca*.

É interessante observar que, na maioria das amostras, a composição polínica se deu de 1 a 3 tipos, sendo um PP e, os outros dois, secundários (PS) ou menos importante (MI). A maioria das coletas PP obteve concentrações >55%, apenas no tipo *Eugenia* (L8 e L10) essa concentração foi inferior.

### 3.3 - Análise de Componentes Principais (PCA)

Nossa análise de componentes principais (PCA), indicou a separação de dois principais grupos: o grupo com efeito bactericida (CE), sendo agrupado pelos tipos

polínicos *Eucalyptus*, *Bauhinia*, *Eriotheca*, *Ouratea* e *Poincianella*, e o grupo sem efeito bactericida (SE), agrupado pelos demais tipos (Fig. 2). Com exceção de *Bauhinia* e *Poincianella* (MI), todos os tipos classificados no agrupamento CE demonstraram composição PP.

### 3 DISCUSSÃO

Este trabalho é o primeiro trabalho que busca investigar o potencial efeito antibacteriano do alimento larval de abelhas não eussociais, frente a bactérias precursoras da cárie. Os resultados obtidos sugerem que a composição polínica apresenta influência sobre a atividade antibacteriana.

A relação entre o efeito da composição do alimento larval e atividade antibacteriana do pólen foi proposta Caldas *et al.* (2019). Esses autores verificaram um efeito CIM moderado do pólen bruto de *Apis mellifera*, frente às bactérias *S. aureus* e *Escherichia coli*, sugerindo que atividade destes compostos está diretamente relacionada à complexidade e diversidade da flora ao redor dos ninhos desses insetos, e que, tal propriedade pode se tornar presente e mais intensa, de acordo com o local que os ninhos estão inseridos.

Já Carneiro *et al.* (2019) demonstraram que as propriedades antibacterianas do pólen coletado por abelhas sociais do gênero *Melipona* da região Amazônica não se mostraram efetivas frente às cepas de *S. oralis* e *S. sanguinis*. Essas análises corroboram parcialmente com o que foi demonstrado em nosso experimento: *S. oralis* não demonstrou sensibilidade frente às amostras coletadas, apenas em *S. sanguinis* foi observado valores CIM e CBM. Entretanto, no referido estudo, não houve a análise do tipo de recurso coletado por essas abelhas.

Garcia e colaboradores (2001) demonstraram utilizando *S. aureus*, que amostras de mel cuja composição polínica era mista, possuíam propriedades antibacterianas baixas se comparadas às amostras contendo composição predominante de um único tipo de pólen. Em suas análises, os pesquisadores observaram que o pólen de *Eucalyptus* possui propriedade bactericida intermediária se comparada aos outros tipos polínicos predominantes, como *Rosmarinus* (que obteve resultados antibacterianos fortes) e Ericaceae (que obteve resultados antibacterianos fracos).

Analisando a composição das amostras (Fig. 1) com os dados CIM e CBM obtidos (Tabela 2), observa-se que, as amostras que demonstraram atividades antibacterianas para as cepas, possuíam composição de um tipo polínico predominante (PP). Dentre esses tipos, pode se destacar *Eucalyptus*, *Eriotheca* e *Ouratea*. Essa análise corrobora com os dados de Garcia *et al.* (2001) sobre a propriedade bactericida de *Eucalyptus*. Entretanto, nossos dados evidenciaram que, baixas concentrações de um PP (< 55%) não demonstraram propriedades antibacterianas, como *Eugenia*, o que nos sugere duas hipóteses: (i) esse tipo polínico não possui propriedade antibacteriana e, (ii) apenas concentrações superiores (> 70%) demonstram tal capacidade, observando as outras amostras que demonstraram o efeito.

Quanto a composição polínica das amostras, Morais *et al.* (2011) observaram em seus estudos que, amostras com composição predominante de um tipo de pólen, demonstraram resultados mais promissores se comparados aos que possuíam tipos polínicos mistos, corroborando com Garcia *et al.* (2001). O tipo Myrtaceae demonstrou atividades antibacterianas promissoras frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, bem como outras bactérias de importância econômica como *Escherichia coli*. Tal estudo, reforça a hipótese (ii) que, a atividade bactericida e/ou bacteriostática pode ser potencializada por concentrações superiores de um determinado tipo polínico.

Há poucos relatos na literatura que demonstram a eficácia de tipos polínicos específicos contra bactérias causadoras da cárie. Os únicos observados que relacionavam aos dados analisados em nossa composição polínica, destacaram os potenciais efeitos dos tipos: Myrtaceae e *Eucalyptus* como potenciais tipos com propriedades antibacterianas para outras bactérias (Morais *et al.*, 2011; Garcia *et al.*, 2001). O pólen de *Machaerium*, abundante em muitas das nossas amostras, não tem descrição de sua possível propriedade antibacteriana.

Relacionando a análise de componentes principais (PCA) e a composição polínica (Fig. 1), observa-se a separação de dois grupos: com efeito (CE) e sem efeito (SE). Nota-se que a composição do grupo CE se deu basicamente pelos tipos que possuíam concentrações elevadas em suas amostras, com exceção de *Bauhinia* e *Poincianella* (MI). Essa observação reforça e sugere algumas hipóteses, (i) esses pólenes possuem propriedades antibacterianas; ou (ii) foram classificados desta forma por estarem presentes em baixas concentrações nas amostras que demonstraram tal característica.

Por outro lado, nas análises PCA, o tipo Myrtaceae foi classificado como SE, mesmo sido descrito em outros estudos (Morais *et al.*, 2011) como bactericida e/ou bacteriostático. Tal fato pode ser relacionado à baixa concentração desse recurso nas amostras que foi presente (L5 e L9), representando apenas 3,6% (MI) da composição total dessa coleta.

Observando nossas amostras, nota-se a diferença da composição encontrada em cada coleta. Embora o tipo *Machaerium* tenha sido PP em oito das amostras coletadas, apenas três dessas amostras obtiveram resultados antibacterianos demonstrados (L6, L7 e L9). Essa análise reforça nossa hipótese de que: (ii) concentrações diferentes desse recurso, influenciam na capacidade bactericida e/ou bacteriostática.

Sabendo que as abelhas *X. grisescens* e *X. frontalis* possuem semelhanças em seu perfil de coleta polínica (Araújo, 2019), a variação das amostras se dá principalmente pela variação da estação. As análises CIM e CBM (Tabela 2) evidenciaram que as amostras coletadas durante a estação seca (Fig.1) demonstraram maiores propriedades antibacterianas, sugerindo que esse é o momento ideal de coleta.

Considerando a relação CIM analisadas (Tabela 2) e, observando variações polínicas das amostras (Fig. 1), observa-se que o perfil de coleta predominante a um tipo polínico, pode refletir a propriedade antibacteriana deste recurso vegetal isolado, sendo necessário maiores estudos para comprovação dessa hipótese.

Por fim, relacionando as bactérias causadoras da cárie selecionadas, observa-se que, apenas cinco das oito cepas analisadas se mostraram receptivas ao tratamento polínico, nas concentrações de 1 a 2mg/mL. Embora não tenha relatos completos na literatura sobre esse painel de bactérias frente a esses recursos, os dados corroboram parcialmente com os observados por Carneiro *et al.* (2019). De fato, *S. sanguinis* foi uma das bactérias que demonstraram maior aceitação ao tratamento. Entretanto, *S. oralis*, não demonstrou receptividade a esse composto.

#### 4 CONCLUSÕES

As amostras de alimento larval, demonstraram valores bactericidas em um intervalo de 2 a 1 mg/mL para as bactérias bucais. Entretanto, o recurso coletado durante a estação úmida demonstrou resultados CIM inferiores aos coletados durante a estação seca. Os materiais avaliados que apresentaram melhor atividade antibacteriana nas concentrações analisadas foram: L11 e L14 com composição predominante de um tipo polínico.

Os recursos coletados por abelhas *X. grisescens* e *X. frontalis* durante a estação seca, demonstraram propriedades antibacterianas superiores às coletadas durante a estação úmida.

Sobre a composição polínica ideal, faz-se necessário maiores estudos buscando avaliar se (i) o recurso polínico isolado de *Eucalyptus*, *Bauhinia*, *Eriotheca*, *Ouratea* e *Poincianella*, demonstram valores bactericidas e, (ii) quais as concentrações ideais desses recursos podem ser utilizadas neste tratamento.

## REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, Thayane Nogueira (2019). Food niche partition of *Xylocopa* (*Neoxylocopa*) *frontalis* (Olivier) and *Xylocopa* (*Neoxylocopa*) *grisescens* Lepelletier (Apidae, Xylocopini). 2019. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- Bakour, M., Fernandes, Â., Barros, L., Sokovic, M., Ferreira, I. C. F. R., & Badiia lyoussi. (2019). Bee bread as a functional product: Chemical composition and bioactive properties. LWT.
- Batra, S. (1984). *Solitary Bees*. *Scientific American*, 250(2), 120-127.
- Bernardino, A.S., & Gaglianone, M.C. (2008). *Nest distribution and nesting habits of Xylocopa ordinaria Smith (Hymenoptera, Apidae) in a restinga area in the northern Rio de Janeiro State, Brazil*. *Revista Brasileira de Entomologia*, 52, 434–440.
- Caldas, F., Augusto Filho, F., Facundo, H., Alves, R., Santos, F., Silva, G., Silva, T. (2019). *Chemical composition, antiradicalar and antimicrobial activity of Fabaceae pollen bee*. *Química Nova*. 49-56
- Carneiro, A. L. B., Gomes, A. A., Alves da Silva, L., Alves, L. B. Cardoso da Silva, E., da Silva Pinto, A. C., Naiff, M. de F. (2019). *Antimicrobial and Larvicidal Activities of Stingless Bee Pollen from Maués, Amazonas, Brazil*. *Bee World*, 1–6.
- CLSI, *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically ; Approved Standard — Ninth Edition Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing ; Twenty-second Informational Supplement*, (2012).
- Costa, M. C. A., Morgano, M. A., Ferreira, M. M. C., & Milani, R. F. (2017). *Analysis of bee pollen constituents from different Brazilian regions: Quantification by NIR spectroscopy and PLS regression*. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*. 76-83.
- Erdtman, G. (1960). *The acetolysis method. A revised description*. *Svensk Botanisk Tidskrift*, 54(4), 561-564.
- Franca J.R., De Luca M.P., Ribeiro T.G., Castilho R.O., Moreira A.N., Santos V.R., Faraco A.A.G. (2014). *Propolis-based chitosan varnish: drug delivery, controlled release and antimicrobial activity against oral pathogen bacteria*. *BMC Complement Altern Med*. 14(1), 11

Garcia, M., Pérez-Arquillue, C., Juan, T., Juan, M. I., & Herrera, A. (2001). Note. Pollen analysis and antibacterial activity of Spanish honeys. *Food science and technology international*, 7(2), 155-158.

Junqueira, C. N., Rabelo, L. S., Bastos, E. M. A. F., & Augusto, S. C. (2017). Do flexible pollen foraging habits of *Xylocopa frontalis* (Apidae, Xylocopini) contribute to nest management in passion fruit crops? *Journal of Apicultural Research*, 56(5), 646–652.

Junqueira, C.N., Hogendoorn, K., Augusto, S.C. (2012). The use of trap-nests to manage carpenter bees (Hymenoptera: Apidae: Xylocopini), pollinators of passion fruit (Passifloraceae: *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* ). *Annals of the Entomological Society of America*. 105(6), 884–889

Junqueira, C.N., Yamamoto, M., Oliveira, P.E., Hogendoorn, K., Augusto, S.C. (2013). Nest management increases pollinator density in passion fruit orchards. *Apidologie* 44, 729–737

Kieliszek, M., Piwowarek, K., Kot, A. M., Błażej, S., Chlebowska-Śmigiel, A., & Wolska, I. (2018). Pollen and bee bread as new health-oriented products: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 71, 170–180

Komosinska -Vassev, K., Olczyk, P., Kaźmierczak, J., Mencner, L., & Olczyk, K. (2015). Bee pollen: chemical composition and therapeutic application. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 1-6.

Latreille, P. A. (1802). *Histoire Naturelle des Fourmis et Recueil de Mémoires et d'Observations sur les Abeilles, les Areignées, les Faucheurs et autres Insectes*. Paris: Barrois 8, 445.

Lepelletier, A. L. M. (1841). *Histoire Naturelle des Insectes. Hyménoptères*. Paris: Roret. 2, 178.

Marinho B.V.S., Araújo A.C.S. (2007). Use mouthwash in gingivitis and dental biofilm. *International Journal of Dentistry*. 6(4), 124-131

Morais, M., Moreira, L., Feás, X., & Estevinho, L. M. (2011). Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Food and Chemical Toxicology*, 49(5), 1096–1101.

Oliveira-Filho J.H., Freitas B.M. (2003). Colonization and reproductive biology of carpenter bees (*Xylocopa frontalis*) in a model of rational nesting box. *Ciencia Rural*. 33(4), 693-697

Olivier, A. G. (1789). Primary homonym of *Apis frontalis* Villers Abeille. Encyclopédie Méthodique. Histoire Naturelle. Insectes. Paris: Pankouke. 4, 46-84.

Pereira, M. & Garófalo, C. A. (2010). Nesting biology of *Xylocopa frontalis* and *Xylocopa grisescens* (Hymenoptera, Apidae, Xylocopini) in trap-nests. *Oecologia Australis*, 14(1), 193–209.

Raju, A.J.S., & Rao, S.P. (2006). Nesting habits, floral resources and foraging ecology of large carpenter bees (*Xylocopa latipes* and *Xylocopa pubescens*) in India. *Current Science*, 90, 1210–1217.

Roubik, D.W. & Moreno, J.E. (1991). The pollen and spores of Barro Colorado Island. St Louis (Missouri): Missouri Botanical Garden, 268.

Santiago, K. B., Piana, G. M., Conti, B. J., Cardoso, E. de O., Murbach Teles Andrade, B. F., Zanutto, M. R., Sforcin, J. M. (2017). Microbiological control and antibacterial action of a propolis-containing mouthwash and control of dental plaque in humans. *Natural Product Research*, 32(12), 1441–1445.

Vilhena, A.M.G.F., Rabelo, L.S., Bastos, E.M.A.F. & Augusto, S.C. (2012). Acerola pollinators in the savanna of Central Brazil: temporal variations in oil-collecting bee richness and a mutualistic network. *Apidologie*, 43, 51-62.

Voulgari-Kokota, A., McFrederick, Q. S., Steffan-Dewenter, I., & Keller, A. (2019). Drivers, Diversity, and Functions of the Solitary-Bee Microbiota. *Trends in Microbiology*. 27(12), 1034-1044.

Tabela 1: Descrição do local de coleta e data das amostras de *X. frontalis* e *X. grisescens* na região do Triângulo Mineiro – Minas Gerais, Brasil.

Amostra	Local	Data	Estação	Espécies
L1	PG	11/02/2020	Úmida	<i>X. grisescens</i>
L2	PG	11/02/2020	Úmida	<i>X. grisescens</i>
L3	PG	11/02/2020	Úmida	<i>X. frontalis</i>
L4	PG	11/02/2020	Úmida	<i>X. frontalis</i>
L5	PG	11/02/2020	Úmida	<i>X. frontalis</i>
L6	PG	02/03/2020	Úmida	<i>X. frontalis</i>
L7	PG	02/03/2020	Úmida	<i>X. frontalis</i>
L8	IB	30/10/2019	Úmida	<i>X. frontalis</i>
L9	PG	02/03/2020	Úmida	<i>X. frontalis</i>
L10	PG	06/11/2019	Úmida	<i>X. frontalis</i>
L11	PG	08/08/2020	Seca	<i>X. grisescens</i>
L12	AL	08/08/2020	Seca	<i>X. grisescens</i>
L13	PG	08/08/2020	Seca	<i>X. frontalis</i>
L14	PG	08/08/2020	Seca	<i>X. grisescens</i>

Legenda: IB: Instituto de Biologia – localizado em 18°53'10.0"S 48°15'36.2"W, PG: Estação Ecológica do Panga – localizada em 19°10'57.7"S 48°23'37.5"W, AL: Fazenda Experimental Água Limpa, localizada em 19°05'48"S/48°21'05"W.

Tabela 2: Atividade antibacteriana frente a cepas causadoras da cárie sob diferentes concentrações de pólen obtido por abelhas *X. griseascens* e *X. frontalis*

Amostra	Concentração Inibitória Mínima / Concentração Bactericida Mínima (mg/mL)								Estação
	<i>S. mutans</i> ATCC 25175	<i>S. mitis</i> ATCC 49456	<i>S. oralis</i> ATCC 55229	<i>S. sobrinus</i> ATCC 33478	<i>S. sanguinis</i> ATCC 10556	<i>L. paracasei</i> ATCC 11578	<i>S. salivarius</i> ATCC 25975	<i>E. faecalis</i> ATCC 4082	
L6 <sup>+</sup>	-/-	2/-	-/-	-/-	1/1	2/2	-/-	-/-	ÚMIDA
L7 <sup>+</sup>	-/-	2/2	-/-	-/-	1/2	2/2	-/-	-/-	ÚMIDA
L9 <sup>+</sup>	-/-	2/2	-/-	-/-	1/1	2/-	-/-	-/-	ÚMIDA
L11 <sup>°</sup>	-/-	1/1	-/-	2/2	1/1	2/2	-/-	-/-	SECA
L12 <sup>°</sup>	-/-	1/1	-/-	2/2	2/-	2/2	-/-	2/2	SECA
L13 <sup>+</sup>	-/-	1/2	-/-	2/2	1/1	2/2	-/-	2/2	SECA
L14 <sup>°</sup>	-/-	1/1	-/-	2/2	1/1	2/2	-/-	2/2	SECA
Controle positivo (µg/mL)*	0,461	1,844	1,844	0,922	0,922	1,844	0,461	7,375	

- : concentrações superiores a 2 mg/mL; <sup>+</sup> *X. frontalis*; <sup>°</sup> *X. griseascens*; \* clorexidina;

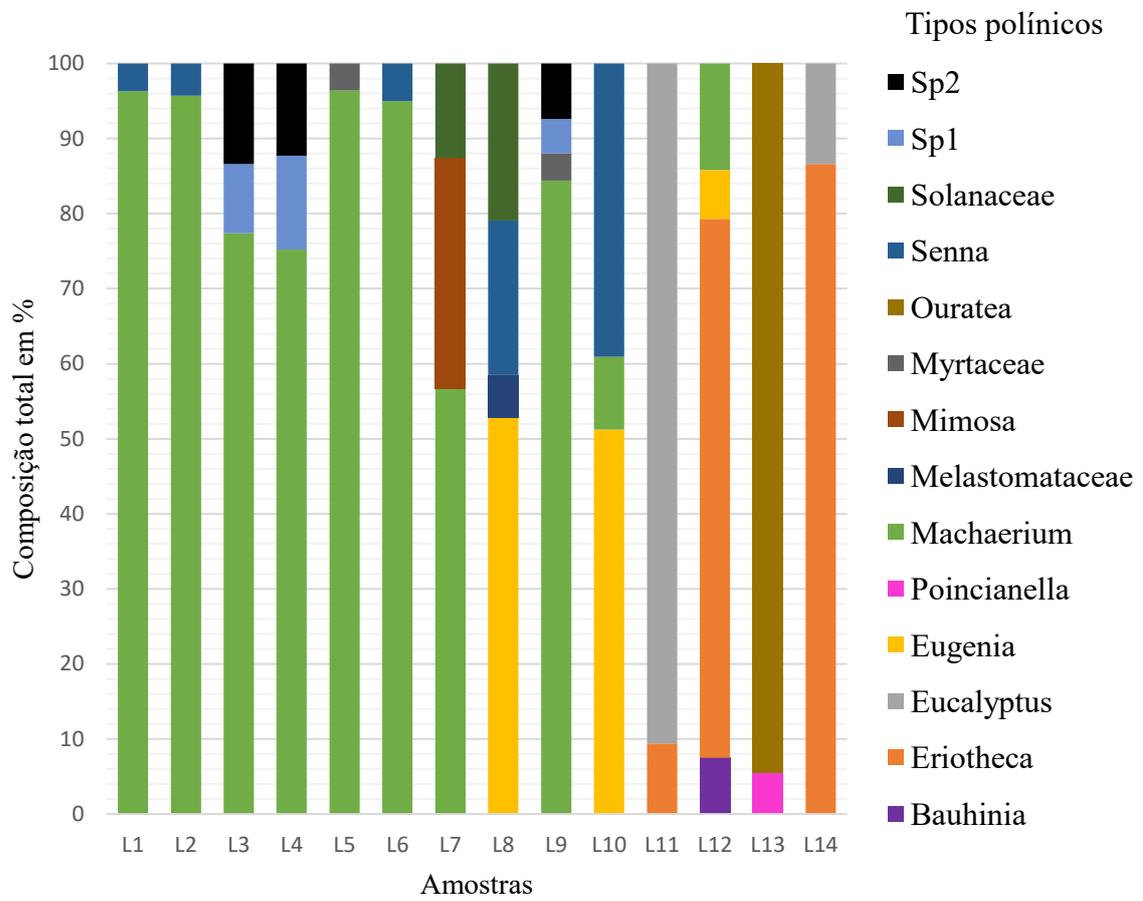


Figura 1: Composição polínica das amostras coletadas no período entre agosto de 2019 a agosto de 2020 na região de Uberlândia - Minas Gerais, Brasil.

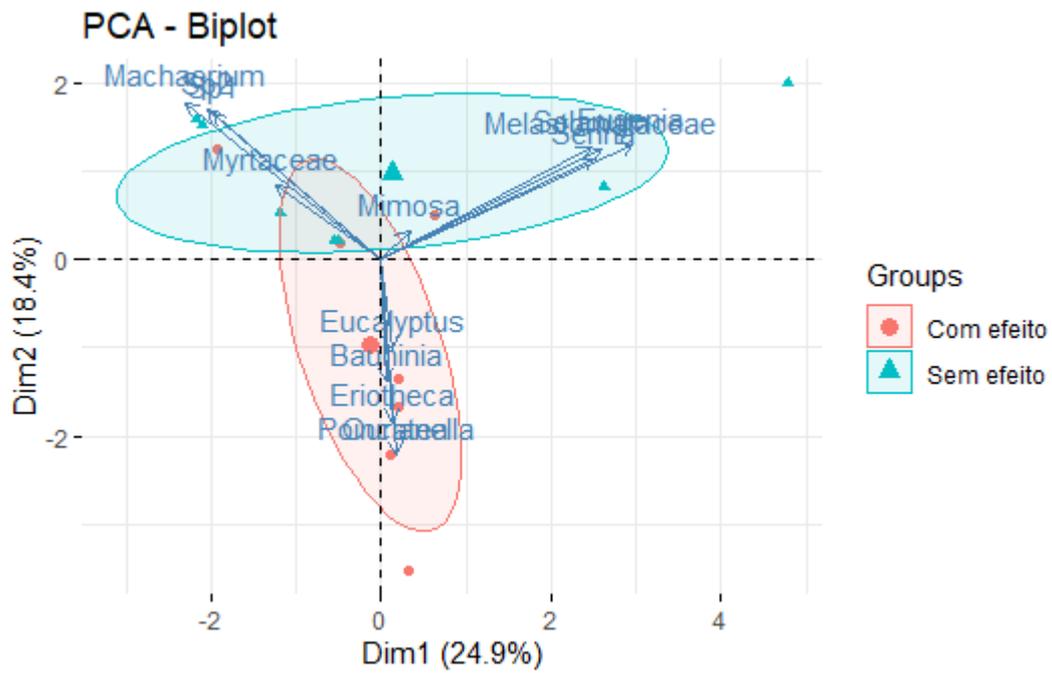


Figura 2: A Análise de Componentes Principais (PCA) indicando a formação de dois grupos. Com efeito bactericida, representado na área avermelhada e, amostras que não apresentaram efeito bactericida, representado pela área em azul.